

Белорусский государственный университет



« 30 » ноября 2016 г.

Регистрационный № УД - 3285 /уч.

### **Технология рекомбинантных ДНК**

**Учебная программа учреждения высшего образования  
по учебной дисциплине для специальности:**  
1-31 01 01 Биология (по направлениям)  
специализаций 1-31 01 01-01 25 Молекулярная биология  
и 1-31 01 01-02 25 Молекулярная биология

2016 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 01-2013 и учебных планов УВО № G31з-157/уч. 2013 г., № G31з-159/уч. 2013 г.

**СОСТАВИТЕЛЬ:**

Александр Вячеславович Качан, доцент кафедры молекулярной биологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук

**РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:**

Кафедрой молекулярной биологии Белорусского государственного университета (протокол № 7 от 11 ноября 2016 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 3 от 30 ноября 2016 г.)

## ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина «Технология рекомбинантных ДНК» относится к циклу дисциплин специализации учебных планов и предназначена для студентов специализаций 1-31 01 01-01 25 Молекулярная биология и 1-31 01 01-02 25 Молекулярная биология.

Вторая половина XX века знаменуется непрерывным обогащением знаний о фундаментальных механизмах функционирования генетического аппарата клеток и экспрессии генетического материала. В 70-е годы достигнутые успехи позволили разработать комплекс методических подходов, которые были названы «технологией рекомбинантных ДНК». Под этим определением понимают получение новых генетических последовательностей путём объединения *in vitro* фрагментов ДНК из разных источников. Процедура получения рекомбинантной ДНК обычно подразумевает под собой проведение молекулярного клонирования, в ходе которого рекомбинантная ДНК вводится в целевые клетки для последующей репликации в них.

Многочисленные методики получения рекомбинантной ДНК, быстро совершенствующиеся и в настоящее время, стали мощным инструментом для исследования функционирования и регуляции генов. Их использование способствует пополнению наших знаний в области молекулярной генетики, геномики, цитологии, биологии индивидуального развития организмов и других. Кроме того, технология рекомбинантных ДНК позволяет направленно изменять структуру генома биотехнологически значимых организмов, создавать трансгенные штаммы микроорганизмов, сорта растений и породы животных с новыми наследственными свойствами, обеспечивает возможность получения генно-инженерных продуктов биотехнологии. Направленное изменение генетического материала позволяет проводить генотерапию наследственных и онкологических заболеваний.

**Цель учебной дисциплины** – сформировать у студентов понимание основных принципов конструирования рекомбинантных ДНК, а также дать представление об основных направлениях применения технологии рекомбинантных ДНК.

**В задачи учебной дисциплины** входит изучение классических и современных методик, благодаря которым осуществляется конструирование рекомбинантных ДНК, создание библиотек ДНК; ознакомление студентов с техникой проведения амплификации последовательностей ДНК, подходами к внесению направленных мутаций в нуклеотидные последовательности, способами получения синтетических нуклеотидных последовательностей; формирование представлений о структуре важнейших векторных молекул, применяемых для клонирования генов в клетках микроорганизмов, растений и животных, способах введения ДНК в клетки.

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

**знать:**

- основные принципы конструирования рекомбинантных молекул ДНК и молекулярного клонирования;
- свойства и области применения основных ферментов и олигонуклеотидов, необходимых для молекулярного клонирования;
- строение и подходы к использованию важнейших векторных молекул микроорганизмов, растений и животных;
- подходы к получению и скринингу библиотек ДНК;
- теоретические основы химического синтеза нуклеотидных последовательностей *in vitro*;
- принципы амплификации ДНК, способы использования полимеразной цепной реакции для конструирования рекомбинантных ДНК;
- способы направленного изменения структуры нуклеотидных последовательностей;

**уметь:**

- планировать проведение экспериментов по молекулярному клонированию генов;
- свободно ориентироваться в научных публикациях по вопросам дисциплины, структурировать и пополнять полученные знания новыми данными;
- осваивать новые методики конструирования рекомбинантных молекул ДНК;
- использовать полученные знания в научной и педагогической деятельности;

**владеть:**

- методами конструирования рекомбинантных векторных молекул и анализа их структуры.

Программа учебной дисциплины составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным учебным дисциплинам («Молекулярная биология», «Биохимия», «Генетика» и др.). Опыт, полученный студентами в ходе изучения данной дисциплины, будет полезен студентам при выполнении курсовых и дипломных научных работ.

В соответствии с образовательным стандартом по специальности 1-31 01 01 «Биология (по направлениям)» изучение учебной дисциплины «Технология рекомбинантных ДНК» должно обеспечить формирование у студента следующих компетенций:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-2. Владеть системным и сравнительным анализом.

АК-3. Владеть исследовательскими навыками.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

ПК-1. Квалифицированно проводить научные исследования в области биохимии и молекулярной биологии, проводить анализ результатов экспериментальных исследований, формулировать из полученных результатов корректные выводы.

ПК-2. Осваивать новые модели, теории, методы исследования, разрабатывать новые методические подходы.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-4. Готовить научные статьи, сообщения, рефераты, доклады и материалы к презентациям.

ПК-5. Составлять и вести документацию по научным проектам исследований.

ПК-6. Квалифицированно проводить научно-производственные исследования, выбирать грамотные и экспериментально обоснованные методические подходы, давать рекомендации по практическому применению полученных результатов.

ПК-7. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научно-технических и других информационных источниках.

ПК-8. Организовывать работу по подготовке научных статей, заявок на изобретения и лично участвовать в ней.

ПК-10. Организовывать работу по обоснованию целесообразности научных проектов и исследований.

ПК-11. Составлять и вести документацию по научно-производственной деятельности.

В соответствии с учебными планами изучение учебной дисциплины осуществляется в 7-8 семестрах. Программа учебной дисциплины рассчитана на 128 часов, в том числе 16 часов аудиторных: 12 – лекционных, 4 – лабораторных занятий. Форма текущей аттестации – экзамен.

## **СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА**

### **1. ВВЕДЕНИЕ. ПРИНЦИПЫ КОНСТРУИРОВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ МОЛЕКУЛ ДНК**

Основные открытия современной биологии, послужившие фундаментом для возникновения технологии рекомбинантной ДНК. Организация генетического материала клетки и принципы его функционирования. Принципы конструирования рекомбинантной ДНК. Этапы проведения эксперимента по молекулярному клонированию.

## **2. ФЕРМЕНТЫ И ДРУГИЕ МОЛЕКУЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В МОЛЕКУЛЯРНОМ КЛОНИРОВАНИИ**

Рестрицирующие эндонуклеазы I, II и III классов. Особенности ферментов рестрикции II класса и их применение. Неспецифические экзо- и эндонуклеазы и их использование (S1-нуклеаза, Bal31- нуклеаза, ДНК-аза I и другие). Фосфатазы и киназы. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы и их применение. Терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза. ДНК-зависимые РНК-полимеразы. РНК-зависимые ДНК-полимеразы. ДНК-лигазы. Олигонуклеотиды, используемые при конструировании рекомбинантной ДНК.

## **3. ОСНОВНЫЕ ВЕКТОРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ. МЕТОДЫ ВВЕДЕНИЯ ДНК В ЖИВЫЕ КЛЕТКИ**

Векторы на основе репликонов бактериальных плазмид. Векторы на основе бактериофагов (M13,  $\lambda$ , P1). Векторные системы грамположительных бактерий. Векторы, применяемые для дрожжевых клеток. Векторы на основе вирусов животных. Векторы на основе Ti-плазмид.

Введение ДНК в клетки животных, растений, бактерий, дрожжей. Принципы получения трансгенных растений. Подходы к созданию трансгенных животных.

## **4. ПОЛУЧЕНИЕ И СКРИНИНГ БИБЛИОТЕК ДНК**

Основные подходы к получению библиотек ДНК прокариотических и эукариотических организмов. Этапы получения геномной библиотеки ДНК. Получение библиотек кДНК из отобранных популяций молекул мРНК. Методы скрининга библиотек рекомбинантных ДНК (гибридизация с радиоактивным ДНК-зондом и другие подходы).

## **5. АМПЛИФИКАЦИЯ ДНК. ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**

Полимеразная цепная реакция. Амплификация ДНК с помощью ПЦР. Молекулярное клонирование ПЦР-продуктов. Модификации и применение метода ПЦР.

Химический синтез последовательностей ДНК с использованием нуклеотидных амидофосфитов. Подходы к сборке протяжённых участков ДНК.

Современные высокоэффективные методы конструирования рекомбинантной ДНК (сборка Гибсона, использование ферментов рекомбинации и др.).

## **6. ВНЕСЕНИЕ НАПРАВЛЕННЫХ МУТАЦИЙ В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ДНК**

Мутагенез клонированной ДНК. Сайт-специфический мутагенез. Направленный мутагенез с помощью олигонуклеотидов. Направленный мутагенез с использованием ПЦР. Сегмент-специфический мутагенез и направленная эволюция последовательностей. Внесение мутаций в геном клетки с помощью системы CRISPR/Cas9.

## УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Введение. Принципы конструирования рекомбинантных молекул ДНК	2						Устный опрос
2	Ферменты и другие молекулы, используемые в молекулярном клонировании	2						
3	Основные векторные молекулы. Методы введения ДНК в живые клетки	2			2			
4	Получение и скрининг библиотек ДНК	2						
5	Амплификация ДНК. Химический синтез нуклеотидных последовательностей	2			2			
6	Внесение направленных мутаций в последовательности ДНК	2						

## ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### ЛИТЕРАТУРА

1. Глик Б., Пастерник Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. / М.: Мир, 2002.
2. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии / Санкт-Петербург: Издательство СПбГТУ, 2002.
3. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия / Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2004.
4. Патрушев Л.И. Искусственные генетические системы. Том 1: Генная и белковая инженерия. / М.: Наука, 2004. - 530 с.
5. Брюханов А. Л., Рыбак К. В., Нетрусов А. И. Молекулярная микробиология / М.: Издательство МГУ, 2012. – 480 с.
6. Шмид Р. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / М.: Бином. Лаборатория знаний, 2014. – 325 с.
7. Clark D.P., Pazdernik N.J. Biotechnology. Academic Cell Update / Elsevier, 2012. - 750 p.
8. Brown T.A. Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction. - 6th Ed./Wiley, 2010. -338 p.

### ПЕРЕЧНИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

1. Основные векторные молекулы. Методы введения ДНК в живые клетки. (2 ч)
2. Амплификация ДНК. (2 ч)

### МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (учебно-программные материалы, учебное издание для теоретического изучения дисциплины, методические указания к лабораторным занятиям, материалы текущей и итоговой аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания, тесты, вопросы для самоконтроля, тематика рефератов и др., список рекомендуемой литературы, информационных ресурсов и др.).

## **ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ**

Учебными планами в качестве формы итогового контроля по учебной дисциплине рекомендован экзамен. Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- защита индивидуальных заданий при выполнении лабораторных работ;
- защита подготовленного студентом реферата;
- устные опросы;

Студент допускается к сдаче экзамена при условии отработки лабораторных занятий.

## ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола) <sup>1</sup>
Молекулярная биология	Кафедра молекулярной биологии	Отсутствуют Зав. кафедрой А.Н. Евтушенко	Утвердить согласование протокол №7 от 11 ноября 2016 г.
Биохимия	Кафедра биохимии	Отсутствуют Зав. кафедрой И.В. Семак	Утвердить согласование протокол №7 от 11 ноября 2016 г.
Генетика	Кафедра генетики	Отсутствуют Зав. кафедрой Н.П. Максимова	Утвердить согласование протокол №7 от 11 ноября 2016 г.

<sup>1</sup> При наличии предложений об изменениях в содержании учебной программы УВО.